Aus dem Universitätsinstitut für Gewächsforschung, Charité, Berlin
(Direktor: Professor Dr. Auler).

Über Kapillar- und Zentrifugierungsversuche mit Impfgeschwülsten der Ratte

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Medizinischen Doktorgrades an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Charlotte Woite
geb. Schleusener
aus Berlin

Tag der Promotion: 30. April 1940

Buchdruckerei und Verlag Rudolph Pfau, Berlin NW 7, Luisenstraße 21.

M 42

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Kreuz
Referent: Prof. Dr. Auler
Korreferent: Prof. Dr. Rössle

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Für die übertragbaren Impfgeschwülste der Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen gilt seit dem ersten erfolgreichen Uebertragungsversuch Hanaus bis auf den heutigen Tag, daß in Uebereinstimmung mit Virchows These: „Omnis cellula e cellula eiusdem generis" die verpflanzten Geschwulstzellen im neuen Wirtstier der Keim der neuen Geschwulst sind. Ueber die an sich bedeutsame Erkenntnis der zellgebundenen Verimpfung hinaus haben die vielfältigen Untersuchungen Ergebnisse gezeitigt, von denen einige hier kurz besprochen werden sollen.

Die Uebertragungen werden als Auto-, Hetero- und Homoiotransplantation ausgeführt.

Die Autotransplantation, die im Prinzip eine künstliche Metastasenbildung ist, geht bei technisch einwandfreien Impfungen virulenten Materials in 100% der Fälle an. Die Heterotransplantation, die Uebertragung von Tumoren einer Spezies auf Tiere einer anderen Spezies ist bisher niemals gelungen. (Die Befunde beim Roussarkom werden in dieser Arbeit nicht berücksichtigt.) Das Hauptarbeitsgebiet der experimentellen Tumorforschung ist die Homiotransplantation, die Uebertragung von Spontan- oder Impfgeschwülsten auf Tiere der gleichen Art. Der Impferfolg ist am größten bei der Uebertragung von Spontantumoren auf die Tiere des gleichen Stammes, in dem der Tumor entstanden ist. Bei reinen Inzuchtstämmen ist der Erfolg einer solchen Impfung sogar 100%. Wechselnd ist er bei der Uebertragung von Spontantumoren eines Stammes auf die Tiere eines andern Stammes. Neben Stämmen, die eine große Tumorempfänglichkeit zeigen, kommen solche vor, die sich gegen die Uebertragung von Tumoren eines anderen Stammes völlig resistent verhalten. Diese Erfahrungen lassen den Schluß zu, daß die übertragenen Tumorzellen und der Wirtsorganismus aufeinander abgestimmt sein müssen, wenn der Tumor angehen soll. Am besten gehen deshalb Autotransplantate an, denn hier hat der Wirtsorganismus denselben Tumor bereits spontan entstehen lassen, er ist also im höchsten Maße auf ihn abgestimmt. Ueber die vorliegenden Verhältnisse gibt die erbbiologische Forschung Erklärungen, die kurz zusammengefaßt dahin lauten: Das Erbbild der verimpften Tu-

morzellen und das des Wirtsorganismus bestimmen dessen Empfänglichkeit für den Tumor. So ist es verständlich, daß der Impferfolg bei den genisch homogenen Tieren eines Inzuchtstammes ebenso hundertprozentig wie bei der Autotransplantation ist. Die Tatsache der Resistenz verschiedener Stämme gegen Tumoren, die in anderen Stämmen gewachsen sind, zeigt ebenfalls die genische Homogenität ihrer Stammestiere an.

In gleicher Weise kommt es auf die genische Konstitution des Tumors an (Krö ning), denn wie die einzelnen Stämme auf Grund ihrer genischen Homogenität oder die einzelnen Tiere in genisch nicht so einheitlichen Stämmen im Impfversuch verschieden reagieren, so zeigen auch die Tumoren oft trotz gleicher Morphologie verschiedene Eigenschaften. Es besteht eine Verschiedenheit in der Transplantabilität und ein Unterschied in der Empfindlichkeit gegen chemische und physikalische Einflüsse.

Neben der Erkenntnis der Individualität haben die Impfversuche auch eine Veränderlichkeit der Tumoren ergeben. Mit zunehmenden Tierpassagen steigt die Virulenz des Tumors. Die Zellen lassen dabei eine morphologisch und biologisch nachweisbare Vereinfachung erkennen. Das scheint mit der klinischen Erfahrung übereinzustimmen, nach der die Unreife der Zellen die Bösartigkeit des Tumors bestimmt.

Die Erfolge der Untersuchungen sind nicht zuletzt von der Impftechnik abhängig. Nur bei gleicher und einwandfreier Technik sind die einzelnen Ergebnisse miteinander zu vergleichen.

Solide Tumoren können als Brei sub- und intracutan, intramuscular und als Zellaufschwemmung intravenös verimpft oder als zusammenhängende Gewebsstücke transplantiert werden. Die gebräuchlichste Methode ist die subcutane Verimpfung von Tumorbrei. Daneben ist die intraperitoneale Impfung sehr erfolgreich. Schließlich ist noch die Organimpfung z. B. Hodenimpfung (Brown Pearce) zu erwähnen. Es hat sich herausgestellt, daß die verschiedenen Gewebe verschieden resistent gegen die Impfung sind. Eine besondere Resistenz zeigt die Milz. Sehr empfänglich sind Hoden und Hirn.

Die Frage, welche Komponente des Impfmaterials es ist, die den Tumor angehen läßt, hat schon oft zur Diskussion gestanden. Es sollte entschieden werden, ob es eine oder mehrere intakte Zellen oder auch auch nur Zelltrümmer sind, aus denen der gleiche Tumor

im geimpften Tier wieder entsteht, oder ob in oder außerhalb der Zelle befindliche krebserregende Stoffe den Organismus des Wirtstieres zur Bildung bösartiger Gewächse veranlassen.

Zunächst war es wichtig, die Rolle der Zellen bei der Ueberimpfung kennen zu lernen.

Das Schicksal eines Transplantates im Wirtskörper ist bestimmt durch die Revascularisation (Roussy). Das Stroma des transplantierten Zellverbandes geht zugrunde und wird durch neues vom Wirtsorganismus gebildetes Stroma ersetzt. Gleichzeitig findet ein Massensterben der Parenchymzellen statt. Sie gehen bis 90% zugrunde und bilden, bis die Vascularisation durch den Wirtskörper beendet ist, ein Nahrungsdepot für die überlebenden Zellen.

Bei der gebräuchlichen Breiverimpfung wird das Tumorgewebe im Mörser zerrieben und damit einem traumatischen Reiz ausgesetzt. Die Impferfolge sind mindestens ebenso gut wie bei der reinen Gewebstransplantation. Ohne Zweifel sind im Brei noch viele im Gewebsverband erhaltene Zellen vorhanden, so daß kein sehr großer Unterschied zum Transplantat besteht.

Positiv ausgefallene Impfversuche mit nekrotischem Material (Auler) lassen die Folgerung, daß die lebende Zelle für die Uebertragung entbehrlich ist, nicht zu, denn es sind mikroskopisch immer noch intakte, meist mehrkernige Zellen zu finden.

Auf verschiedene Weise ist versucht worden, die Einwirkung der Zellen auf den Impferfolg auszuschließen.

1. Durch mechanische Schädigung. Die Ueberimpfung des mit Seesand verriebenen und dadurch stark zerstörten Tumorgewebes hat bei Versuchen mit soliden Tumoren keinen Erfolg. Das Ascitescarcinom der Maus nimmt eine Sonderstellung ein. Die von der Ascitesflüssigkeit durch Zentrifugieren gewonnenen und mit Seesand verrriebenen Zellen erwiesen sich als resistent. Trotz wahrnehmbarer Schädigung der Zellen konnten Impferfolge erzielt werden (Auler).

2. Durch physikalische Schädigungen. Das Gefrieren der Tumorzellen führt nach den Arbeiten von Rössle, Auler u. a. nicht zu der gewünschten Ausschaltung der Zellen. Das Tumorgewebe wurde der Tiefunterkühlung durch flüssige Luft oder flüssigen Stickstoff ausgesetzt. Die Zellen erwiesen sich als kälteresistent und konnten mit Erfolg weiter verimpft werden. Transplantiertes, vorher gefrorenes Tumorgewebe zeigte lebensfähige Zellen von beson-

derer Kleinheit. Wahrscheinlich sind diese Zellen mit den von Borst beschriebenen Kleinzellen identisch. Nach Borst sind die kleinen Zellen, die oft nach Transplantation geschädigten Tumorgewebes im Transplantat gehäuft auftreten und eine lymphocytäre Infiltration vortäuschen können, Abkömmlinge der Tumorzellen. Ebenso hält Auler diese Zellen für eine sehr widerstandsfähige Form der Geschwulstzellen. Vielleicht sind es Kümmerformen der Tumorzellen, die dann vermöge ihrer dichteren Struktur der schädlichen Einwirkung der Kälte widerstehen können.

3. Durch osmotische Schädigung. Nach Einwirkung von hypotonischen Lösungen auf Rattentumoren ist bei einer 0,5% NaCl-Lösung kein Impferfolg mehr zu erzielen. Nach Einwirkung von hypertonischen Lösungen zeigen das Carcinom und das Sarkom verschiedenes Verhalten. Der Impferfolg bleibt beim Carcinom bereits bei 5—6% NaCl-Lösungen aus, bei Sarkom liegt diese Grenze erst bei 7—9%.

Andere Methoden haben die Trennung der Zellen von ihrer Umgebung zum Ziel.

1. Die Filtration. Als Filtermaterial verwendet man Membranen und Tonzellen verschiedener Porengröße und wendet, um die Filtration abzukürzen, das Ueber- oder Unterdruckverfahren an (DK-Filter, Berkefeld-Kerzen u. a.). Die Impferfolge mit diesen Filtraten waren bisher immer negativ. Dies ist nicht unbedingt ein Beweis für die celluläre Entstehung der Impfgeschwulst. Durch die Filtration werden nicht nur die Zellen ausgeschlossen, sondern auch andere Substanzen, die vielleicht ebenfalls für das Angehen eines Tumors verantwortlich zu machen sind. So könnten organische Substanzen z. B. subcelluläre Strukturen kolloidalen Charakters vom Filter zurückgehalten werden (Auler).

2. Die Zentrifugierung. Diese Methode hat den letztgenannten Nachteil nicht. Es ist aber leider bisher nicht gelungen, bei den gebräuchlichen Tourenzahlen bis 15 000/Min. eine absolute Zellfreiheit zu erlangen. Auler und Hohenadel haben in der überstehenden Flüssigkeit eines 3500tourigen Zentrifugats von carcinomatösem Mäuseascites die Borstschen Kleinzellen in besonderer Anhäufung gefunden. Die Zentrifugate von 9500 Touren/Min. enthielten andere stark vakuolisierte Zellen, aus denen dann nach Zugrundegehen der Vakuolen Zellen entstanden sind, die den Borstschen Kleinzellen

glichen. Die fraktinonierte Zentrifugierung hat also dazu geführt, einen bestimmten Zelltypus zu isolieren.

Nach welcher Methode diese Versuche auch immer gemacht wurden, sie haben doch bisher fast übereinstimmend ergeben, daß mit zellfreiem Impfmaterial in der Regel kein Impferfolg zu erzielen ist. Dasselbe gilt für Impfmaterial, dessen Zellen starken Schädigungen ausgesetzt wurden. Danach kann die Anschauung, nach der lebende Zellen die Bedingung für das Angehen einer Impfgeschwulst sind, als experimentell am besten gestützt gelten.

Es stand nun die Frage offen nach der Mindestzahl der Zellen, die einen Impferfolg bedingen. In der Literatur finden sich verschiedene Angaben darüber. Costa gibt für das Sarkom 37 50 000 und für das Ehrlich Adenocarcinom 100 000 Zellen an. Witte findet bei der letzteren Geschwulst als unteren Grenzwert zur Erzielung eines negativen Impfergebnisses die Anzahl von 1 000 000 Zellen, während Fränkel für das Angehen und dauernden Wachstum der Geschwulst eine Anzahl von 5 000 000 für notwendig hält. In einer neueren Arbeit von de Gaitani und Blothner sind für das Ehrlich-Carcinom als unterer Grenzwert 430 000 Zellen in Suspension und 100 000 als Bodensatz nach Zentrifugierung angegeben. Danach hängt der Impferfolg nicht nur von der Anzahl der Zellen, sondern auch von der Höhe ihrer Konzentration ab.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, aus soliden Tumoren mit Hilfe von feinen in dieselben eingeführten Kapillaren zu möglichst zellarmem oder sogar zellfreiem Impfmaterial zu gelangen. Die Kapillaren füllten sich zum größten Teil schnell mit Tumorflüssigkeit, zum kleineren Teil verstopften sie sich mit Gerinnseln, die mikroskopisch aus homogenen, sich gut färbenden Massen bestanden. Der so ohne grobe Zerstörung des Tumorgewebes gewonnene Gewebssaft erwies sich aber nicht als zellfrei. Schon bei der mikroskopischen Betrachtung der Flüssigkeit innerhalb der Kapillare konnte beobachtet werden, wie einzelne Zellen unter starker Verformung die Kapillare passierten. Die durchschnittliche Zellzahl wurde in der Thoma Zeißschen Zählkammer mit 19/cmm bestimmt. Anschließende Zentrifugierung mit 3500 Touren/Min. machte die Flüssigkeit wohl sehr zellarm aber nicht zellfrei. In dem 9500tourigen Zentrifugat wurden noch Teilchen nachgewiesen, die als Zelltrümmer und Kerne gedeutet werden könnten. Die durch die Kapillarfiltration gewonnene Tumorflüssigkeit wurde einerseits unverändert

und andererseits nach Zentrifugierung auf normale Ratten überimpft.

Auler hat in seiner Arbeit über „Versuche am Mäuseascites-carcinom" die Anreicherung eines für die bösartige Geschwulst lebenswichtigen Faktors im carcinomatösen Ascites wahrscheinlich gemacht. Von dieser Voraussetzung ausgehend wurde in einigen Versuchen der durch Kapillarfiltration gewonenen Impfflüssigkeit carcinomatöser Ascites der gleichen oder einer anderen Tierart beigemischt.

In vier anschließenden Versuchen sollte eine Schädigung der Zellen erzielt werden. Die Arbeitsweise ging darauf aus, die Struktur der Zellen zu zerreißen und zu verändern. Nach Gefrieren wurde zerstückeltes Tumorgewebe zunächst im Mörser zerrieben. Der Brei wurde dann mit einer 25% Zuckerlösung versetzt. Die der grob mechanischen Schädigung im Mörser entgangenen Zellen sollten, nachdem sie durch die Kälteeinwirkung stark gedehnt waren, in der hypertonischen Lösung zum Schrumpfen gebracht und somit einer erheblichen Aenderung ihrer Struktur unterworfen werden.

Methode:

In toto herausgenommene Rattentumoren werden mit vielen 4—10 cm langen so fein wie möglich ausgezogenen Kapillaren gespickt. Die Kapillarflüssigkeit wird durch Auspusten mit einem Gebläse gewonnen und teils unverändert oder nach Zentrifugieren mit 3500 bezw. 9500 Touren/Min. nicht vorbehandelten Ratten überimpft. Beide Sedimente werden ebenfalls verimpft.

Versuch 1:

Ausgangsmaterial 2 Tumoren Jensen Sarkom. Der erste Tumor ergibt durch Kapillarfiltration 1,1 cm Tumorsaft, der nicht zentrifugiert subcutan injiziert wird. Aus dem zweiten Tumor werden 1,5 ccm Saft gewonnen, der 20 Min. mit 3500 Umdrehungen/Min. zentrifugiert wird. Die überstehende Flüssigkeit und das Sediment werden getrennt verimpft.

Ratte I erhält 1,1 cm nicht zentrifugierten Kapillarsaft.
Ratte II erhält 1 ccm überstehende Flüssigkeit.
Ratte III erhält 0,3 ccm Sediment.

Die Impfung der Ratte I bleibt ohne Erfolg. Ratte II und III zeigen nach *12 Tagen* erbsengroße Tumoren. Nach *20 Tagen* sind die Tumoren haselnußgroß. Nach *25 Tagen* ist der Tumor der Ratte III auf Erbsengröße zurückgegangen, der Tumor der Ratte II ist taubeneigroß. Nach *5 Wochen* ist der Tumor der Ratte II hühnereigroß und wird zum Versuch 11 genommen. Der Tumor der Ratte III hat sich vollständig zurückgebildet.

Versuch 2:

Ausgangsmaterial: 2 Tumoren Jensensarkom.
Verfahren wie in Versuch 1.

Ratte I erhält 2 ccm nicht zentrifugierten Kapillarsaft.
Ratte II erhält 2,2 ccm überstehende Flüssigkeit 3500tourigen Zentrifugats.
Ratte III erhält 0,8 ccm Sediment.

Nach 3 Wochen zeigt Ratte I einen bohnengroßen Tumor.
Nach 4 Wochen ist der Tumor auf Erbsengröße zurückgegangen. Exstirpation des Tumors. Die histologische Untersuchung ergibt Jensen-Sarkom.

Impfung bei Ratte II und III ohne Erfolg.

Versuch 3:

Ausgangsmaterial: 1 Tumor Flexner-Carcinom.

Es werden durch Kapillarfiltration 4 ccm Tumorsaft gewonnen. 1,5 ccm werden unverändert verimpft. 2,5 ccm werden nach Behandlung wie im Versuch 1 und 2 verimpft.

Ratte I erhält 1,5 ccm unveränderten Kapillarsaft.
Ratte II erhält 1,9 ccm überstehende Flüssigkeit des 3500tourigen Zentrifugats.
Ratte III erhält 0,3 ccm Sediment.
Impfung bei allen Ratten ohne Erfolg.

Versuch 4:

Ausgangsmaterial: 1 Tumor Flexner-Carcinom.
Verfahren wie in Versuch 3.
Ratte I erhält 0,7 ccm unveränderten Kapillarsaft.
Ratte II erhält 1 ccm überstehende Flüssigkeit 3500 tourigen Zentrifugats.
Ratte III erhält 0,3 ccm Sediment.
Impfung bei allen Ratten ohne Erfolg.

Versuch 5:

Ausgangsmaterial: 1 Tumor Jensen-Sarkom.
Verfahren wie Versuch 3.
Ratte I erhält 1,1 ccm unveränderten Kapillarsaft.
Ratte II erhält 2 ccm überstehende Flüssigkeit des 3500 tourigen Zentrifugats.
Ratte III erhält 0,8 ccm Sediment.
Nach 3 Tagen Ratte III tot (angefressen). Sektion o. B.
Nach 10 Tagen zeigt Ratte I einen hirsekerngroßen Tumor.
Nach 3 Wochen ist der Tumor der Ratte I erbsengroß.
Nach 4 Wochen ist der Tumor der Ratte I wallnußgroß.
Nach 7 Wochen ist der Tumor der Ratte I mandarinengroß und wird zum Versuch 13 genommen.
Impfung bei Ratte II ohne Erfolg.

Versuch 6:

Ausgangsmaterial: 1 Tumor Jensen-Sarkom.
Durch Kapillarfiltration gewonnener Tumorsaft 2 ccm. Nicht zentrifugierter Kapillarsaft wird nicht injiziert. Der gewonnene Saft wird im ganzen 20 Min. mit 3500 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit und das Sediment werden getrennt verimpft.
Ratte I erhält 1,1 ccm überstehende Flüssigkeit des 3500tourigen Zentrifugats.
Ratte II erhält 0,5 ccm Sediment.
Nach 8 Tagen Ratte I tot (Sektion: o. B.).
Impfung bei Ratte II ohne Erfolg.

Versuch 7:

Ausgangsmaterial: 1 Tumor Jensen-Sarkom.
Verfahren wie in Versuch 6.
Ratte I erhält 0,3 ccm überstehende Flüssigkeit des 3500tourigen Zentrifugats.

Ratte II erhält 0,2 ccm Sediment.
Nach 14 Tagen Ratte I tot (Sektion: o. B.).
Impfung bei Ratte II ohne Erfolg.

Versuch 8:

Ausgangsmaterial: 1 Tumor Jensen-Sarkom.

Durch Kapillarfiltration gewonnener Tumorsaft = 1,5 ccm. Der gesamte Kapillarsaft wird wie bisher 20 Min. mit 3500 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Davon werden 0,6 ccm überstehende Flüssigkeit der normalen Ratte subcutan injiziert. Der Rest von 0,7 ccm wird noch einmal 10 Min. mit 9500 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit und das Sediment des 2. Zentrifugats werden ebenfalls subcutan verimpft.

Ratte I erhält 0,6 ccm überstehende Flüssigkeit des 3500tourigen Zentrifugats.
Ratte II erhält 0,4 ccm überstehende Flüssigkeit des 9500tourigen Zentrifugats.
Ratte III erhält 0,2 ccm Sediment des 9500tourigen Zentrifugats.
Impfung bei allen Ratten ohne Erfolg.

Es werden noch 22 weitere Versuche nach dieser letzten Versuchsanordnung gemacht. Sämtliche Impfungen bleiben ohne Erfolg.

In den nächsten 5 Versuchen mit Jensen-Sarkom wird ein Teil des durch Kapillarfiltration gewonnenen Tumorsaftes zu gleichen Teilen mit carcinomatösem Menschen-, Ratten- oder Mäuseascites vermischt und nach einer Zentrifugierung von 20 Min. Dauer und 9500 Touren/Min. normalen Ratten subcutan überimpft. Der andere Teil der Kapillarflüssigkeit wird zur Hälfte in Westergreen-Pipetten 24 Std. sedimentiert. Die überstehenden Flüssigkeiten, die zellhaltig sind, werden nicht vorbehandelten Ratten subcutan überimpft. Sämtliche Impfungen sind ohne Erfolg.

In 4 folgenden Versuchen werden die Versuchsbedingungen weiterhin variiert. Der durch Kapillarfiltration gewonnene Tumorsaft wird erneut unverändert verimpft, der restliche Tumor in kleine Stücke zerschnitten und mit Kohlensäureschnee gefroren. Die geforenen Tumorstückchen werden im Mörser zu Brei zerstampft und mit 25% Traubenzuckerlösung versetzt. Dieser Brei wird zunächst 20 Min. mit 3500 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Ein Teil der überstehenden Flüssigkeit des Zentrifugats wird injiziert, der Rest wird noch einmal mit 9500 Umdrehungen/Min. zentrifugiert und ebenfalls normalen Ratten subcutan überimpft. Ausgangsmaterial: Jensen-Sarkom. Sämtliche Versuche bleiben ohne Erfolg.

Zusammenfassung.

1. Mit der Kapillarflüssigkeit, in der durch Zählung Zellzahlen von durchschnittlich 19/ cmm ermittelt worden sind, ist in 9 Versuchen 2mal ein Impferfolg erzielt worden. Die verimpfte Anzahl von Zellen betrug etwa 38 000 bezw. 20 900.

2. Von 30 Impfungen der überstehenden Flüssigkeit und dem Sediment eines 3500tourigen Zentrifugats war nur in 1 Falle ein Impferfolg mit der überstehenden Flüssigkeit zu erzielen. Die Impfung mit dem Sediment blieb in allen Fällen erfolglos.

3. Alle 23 Impfungen mit der überstehenden Flüssigkeit und dem Sediment eines 9500tourigen Zentrifugats hatten keinen Erfolg.

4. Die im Anschluß an die Hauptversuchsreihe gemachten 5 Impfversuche, in denen von der Voraussetzung ausgegangen war, daß im carcinomatösen Ascites ein die Geschwulstbildung begünstigender Faktor enthalten sein könnte, blieben ohne Erfolg.

5. 4 Versuche, die die Schädigungen der Tumorzellen zum Ziel hatten, waren erfolglos.

Die durchschnittlichen Ausbeuten der in den Versuchen genommenen Impftumoren betragen im allgemeinen bei technisch einwandfreier Impfung 70—100%. Die Ergebnisse der geschilderten Untersuchungen liegen weit darunter. So zeigten 2 von 9 mit frisch gewonnenem Kapillarsaft geimpfte Tiere nach einer gewissen Zeit strukturgleiche Tumoren. Nun sind diese Impfungen aber nicht mit den gebräuchlichen Stückchen oder Breiverimpfungen zu vergleichen, denn das Ausgangsmaterial war verhältnismäßig zellarm. Die in den beiden positiven Versuchen verimpfte Anzahl von Zellen liegt bereits unter den bisher in der Literatur angegebenen Zahlen. Daß diese Zellzahl gelegentlich noch weitgehend unterschritten werden kann, zeigt der Impferfolg mit der überstehenden Flüssigkeit des 3500 tourigen Zentrifugats, in der im Ausstrich nur vereinzelt Zellen zu finden waren. Das Sediment dieses Zentrifugats hat sich wider Erwarten als weniger wirkungsvoll erwiesen. Der nach 20 Tagen bis zur Haselnußgröße gewachsene Tumor hatte sich nach weiteren 10 Tagen zurückgebildet, während der durch Verimpfung der überstehenden Flüssigkeit erzielte Tumor ein sehr heftiges Wachstum zeigte. Entgegen den Ergebnissen von de Gaitani und E. Blohtner

war in diesem Falle das Material, das neben der kleineren Zellzahl auch eine geringere Konzentration der Tumorzellen aufwies, das wirkungsvollere. Die Ursache kann in der Verschiedenheit der Reaktionslage beider Erfolgtiere gesucht werden. Außerdem liegt die Vermutung nahe, daß in der überstehenden Flüssigkeit in diesem Falle Zellen von besonderer Virulenz und Widerstandskraft noch vorhanden waren.

Ferner überrascht der Befund, daß die in 30 Versuchen verimpften Sedimente des 3500tourigen Zentrifugats, in denen die Zellen in größerer Konzentration enthalten waren als in dem reinen Kapillarsaft, in keinem Falle zur Tumorbildung führten. Daraus geht ebenfalls hervor, daß es nicht so sehr auf die Konzentration der Zellen ankommt wie auf ihre Virulenz und Widerstandsfähigkeit.

Die Ergebnisse der Impfversuche mit der zellarmen überstehenden Flüssigkeit des 9500tourigen Zentrifugats und die der Schädigungsversuche sprechen erneut für die Richtigkeit der herrschenden Anschauung, nach der für das Angehen solider Säugetiergeschwülste eine Mindestzahl von lebenden Zellen notwendig ist.

Ob neben der geringen Zellzahl auch die Schädigungen, die die Zellen in der Kapillare und später bei der Verarbeitung in der Zentrifuge erlitten haben, die Ursache für die geringen Impferfolge sind, kann in dieser Arbeit nicht entschieden werden. Daß eine Schädigung in der Kapillare erfolgt, ist wahrscheinlich. Die häufig beobachtete Gerinnselbildung in der Kapillare, bei der es sich nicht um eine Blutgerinnung handeln kann, weil das Material von ausgebluteten Tieren stammt, entsteht nach Beobachtungen von Auler und Bylina vermutlich durch eine Plasmaschädigung der Zellen infolge der Kapillarkräfte.

Schrifttum.

Schinz Hans R. u. Buschke, Franz: Krebs und Vererbung.

Borst: Ueber die Geschwulsttransplantation und über die Einführung zellfreier Filtrate von Tumoren mit Betrachtungen über die kleinen Zellen (Z. f. Krebsforschung, Bd. 44).

Auler: Zum Thema der zellfreien Uebertragung des Impfkrebses (Med. Klinik 16, 1939).

Auler und Hohenadel, B.: Untersuchungen am Mäuseascites-carcinom (Z. f. Krebsforschung, Bd. 48).

De Gaitani und Blothner, E.: Ein Beitrag zur Frage der Geschwulsttransplantation mit ausgezähltem Zellmaterial (Z. f. Krebsforschung, Bd. 44).

Costa, Antonio: Untersuchungen über die zur Uebertragung solider Geschwülste notwendige Zellzahl unter Bezugnahme auf die Filtrierungsversuche und auf die Pathogenese des Materials (Z. f. Krebsforschung, Bd. 36).

Auler und Bylina: Prüfung der Kälteresistenz bösartiger Zellen mit Hilfe der Kapillarfiltration (Z. f. Krebsforschung, Bd. 47).

Lebenslauf.

Ich bin als Tochter des Kaufmanns Hermann Schleusener am 8. 1. 1906 zu Berlin geboren und besuchte das Lyzeum de Mugica, Berlin, bis zur 1. Klasse. März 1930 bestand ich die Reifeprüfung der Oberrealschulrichtung als Nichtschüler in Berlin. Vom Beginn des Sommerhalbjahres 1930 bis zur Ablegung des medizinischen Staatsexamens im März 1937 studierte ich ununterbrochen an der Universität Berlin. Am 1. Mai 1938 erhielt ich die Bestallung als Aerztin.